

## **Aberráns fehérje-kölcsönhatások szerepe a neurodegenerációban.**

### **A K-49247 számú kutatás zárójelentése**

A kutatás célja egyes neurodegenerációs folyamatok molekuláris és sejtszintű vizsgálata, energiametabolizmusuk tanulmányozása, a citoskeletális elemeknek a metabolikus folyamatokra gyakorolt hatásainak jellemzése, ezek rendszerszintű modellezése volt. Ehhez három különböző neurodegeneratív betegséghez kapcsolódó modellrendszert használtunk, törekedve egyedi és közös jellemzőik megismerésére.

Mindhárom esetben - triózfoszfátizomeráz-deficiencia (TPI-hiány), Huntington-kór (HD) illetve a TPPP/p25-höz köthető szinukleinopáthiák - sikerült jelentős új eredményeket elérnünk, melyeket nemzetközi folyóiratokban és összefoglaló munkákban (review, könyvfejezet, könyv) közzeltünk. A TPI-hiánnyal kapcsolatos munkán alapul Oláh Judit sikeresen megvédett PhD értekezése.

### **Triózfoszfátizomeráz-deficiencia**

E vizsgálatok előzményét képezte a „Természetes triózfoszfát-izomeráz mutánsok. Egy enzimdeficiencia molekuláris alapjai” című, T-035019 számú OTKA-kutatás (2001-2004). Az ott leírtaknak megfelelően, a kísérletekhez rendelkezésünkre álltak egy TPI-hiányos testvérpár és egészséges, heterozigóta családtagjaik vérmintái, valamint rekombináns humán normál és mutáns TPI.

*TPI-hiányos sejtek glükózlebontással összefüggő metabolizmusának vizsgálata és azok összevetése normál sejtekével. A metabolikus folyamatok modellezése [1, 2]*

Elvégeztük az eritrocita glikolízis és a kapcsolódó reakcióutak összehasonlító kinetikai vizsgálatát, beteg és kontrol személyek hemolizátumait használva. Több glikolitikus enzim és a pentózfoszfát ciklus esetében, a betegekből származó mintában jelentősen (30-60 %-kal) nőtt az enzimaktivitás. Ez egyfajta "kompenzációs mechanizmusra" utal, a csökkent TPI-aktivitás következményeinek kiküszöbölésére. Ezt igazolandó, analizáltuk a csökkent TPI-aktivitás hatását a glikolitikus fluxusra, és matematikai modellt alkottunk. Erre azért volt szükség, mert a mutáns TPI inaktiválódása miatt csak kezdeti sebességet tudtunk kísérletesen meghatározni, fluxust nem. A sebességi egyenleteket és a kinetikai paramétereket a kísérletesen meghatározott mechanizmusok illetve kinetikai állandók alapján írtuk fel.

A modellezés megmutatta hogy i) a glikolitikus intermedierek közül nemcsak a

didroxiaceton-foszfát (DHAP), hanem a fruktóz-1,6-biszfoszfát szintje is jelentősen növekszik, mivel a megváltozott aktivitású enzimek eltérő egyensúlyt alakítanak ki; ii) a mutáns sejtekben gyorsabb a glükózlebontás. Ezek az eredmények összhangban vannak azzal a kísérleti adattal, hogy nem csökken az ATP-szint, és alátámasztják a "kompenzációs mechanizmusra" vonatkozó elgondolást. Megállapítottuk, hogy a TPI-hiány kompenzálásában elsősorban egyes glikolitikus enzimek fokozott aktivitása játszik szerepet, míg a pentózfoszfát-ciklus kompenzációs hatása nem számottevő. Fontosnak tartom kiemelni, hogy az eddigi irodalmi modellek bár jól leírták a normál glikolízist, az enzimhiányos esetet nem tudták kielégítően szimulálni.

#### *A citoskeletális elemeknek a metabolikus folyamatokra gyakorolt hatásainak jellemzése [1, 2]*

E kérdést *in vitro* és matematikai modell segítségével vizsgáltuk, a glikolízisnek a triózfoszfátok átalakulását katalizáló szegmensén (aldoláz - TPI – glicerinaldehid-3-foszfát dehidrogenáz (GAPDH)), tubulin jelen- és távollétében. Ismert, hogy mindhárom enzim kötődhet a tubulinhoz/mikrotubulushoz. Korábban megmutattuk, hogy az aldoláz komplexet képezhet a másik két enzimmal; ezt most fluoreszcencia korrelációs spektroszkópiával is igazoltuk. A kinetikai vizsgálat azt mutatta, hogy akár normál, akár deficiens sejtek hemolizátumához adtunk tubulint, megnőtt a glikolízis e szakaszának fluxusa. A modellezés alapján ennek oka az intermedier glicerinaldehid-3-foszfát (GAP)  $K_M$  értékének látszólagos csökkenése, amit az intermedier mikrokompartmentációja (csatornahatás) okozhat.

#### *Összehasonlító vizsgálatok limfocitákkal [1, 2]*

Az eddigi irodalmi adatok érett vörösvérsejtek vizsgálatára szorítkoztak, amelyek különleges sejtípust jelentenek (fehérjeszintézis hiánya, glikolízisen alapuló energiatermelés). Így vizsgálatainkat kiterjesztettük limfocitákra, amelyek bizonyos tekintetben rokonságot mutatnak az idegsejtekkel, s így az eredmények relevánsabbak lehetnek a neurodegeneráció okát illetően. Mértük a TPI aktivitását, mennyiségét és a mRNS-szintet a betegek és családtagjaik esetén. A családtagoknál az aktivitások egyeznek az enzim mennyisége és a specifikus aktivitások alapján várható értékkel; a betegekénél a vártnál alacsonyabbak. A mRNS szint a súlyosabban beteg testvér esetén kiugróan magas, de ez a különbség fehérjeszinten eltűnik. A betegek TPI aktivitása bár csökkent mértékű, de elég magas a triózfoszfátok egyensúlyának beállításához. Ennek, s annak következtében, hogy a DHAP-t nemcsak a TPI, hanem a glicerol-3-foszfát dehidrogenáz is tovább tudja alakítani, a DHAP-szint csak kismértékben emelkedik.

### *A neurodegenerációval összefüggő további tényezők [1, 2]*

További faktorokat kerestünk, amelyek felelősek lehetnek a két testvér eltérő fenotípusáért. Az egyik legjelentősebb eltérést a prolin-endorpeptidáz mRNS szintjében és aktivitásában találtuk. A betegebb testvérnél az aktivitás 40 illetve 30 %-kal csökkent a kontrolhoz, illetve testvéréhez képest. Ismert, hogy hasonló mértékben csökken a prolin-endorpeptidáz aktivitása más neurodegeneratív betegségekben - Alzheimer-kór (AD), Parkinson-kór (PD), HD - is (Mantle és mtsai, 1996).

### *Összefoglalók [9, 13]*

Felkérésre összefoglaltuk a TPI-deficienciával kapcsolatos jelenlegi biokémiai, genetikai és patológiai ismereteket [9]. Az összefoglaló felveti azt a lehetőséget, hogy a TPI-deficiencia nemcsak hagyományos értelemben vett enzimhiány-betegség, hanem egyben ún. konformációs betegség is. Ez utóbbi vonatkozásban hasonlóságokat mutat különböző neurodegeneratív betegségekkel, amelyekben a hibásan feltekeredő (misfolded) fehérjék aberráns fehérjeaggregációkon keresztül vezetnek neuronális diszfunkcióhoz. A betegség patomechanizmusának általunk javasolt modelljét egy másik összefoglalóban közzétettük [13]. Eredményeinkről a 30. FEBS Kongresszuson és a 4. Európai Glikolízis Munkaértekezleten [4] szóbeli előadásokban is beszámoltunk.

### **Huntington-kór**

*Az energiametabolizmus vizsgálata transzgenikus és neurotoxinnal kezelt egérmodellek segítségével [4, 15]*

A Szegedi Egyetem Neurológiai Klinikája által nevelt transzgenikus (mutáns huntingtin fragmenst expresszáló, N171-82Q) és kontrol egerekből származó agy három régióját vizsgáltuk (anterior, posterior és cerebellum). Míg az anterior és a cerebellum régiókban nem találtunk változást, immunhisztokémiai adatok alapján a posterior régiót jelentősen befolyásolja a HD. Az agymintákból sejtmentes extraktumot készítettünk, s ebben mértük a glikolitikus enzimek aktivitását. (Az agy fő energiaforrása a glükóz, ami elsősorban a glikolízisen keresztül metabolizálódik.)

Egyes enzimek aktivitásában jelentős a különbség. A változások enzimspecifikusak, függenek az agyterülettől, és attól, hogy az adott agyrégióban jelen van-e a mutáns huntingtin fragmens. Ez a variabilitás nem tapasztalható a kontrol egerekben. A transzgenikus egerek esetében legjobban a GAPDH aktivitása csökkent, azonban a hexokináz aktivitása magasabb,

mint a kontroloknál, különösen a betegség által érintett régióban. Mivel a glikolízis fő kontroláló enzime a hexokináz, így nem meglepő, hogy a glikolízis fluxusa a transzgenikus egerek morfológiailag érintett agyterületéről származó minta extraktumában a legmagasabb. A fluxus növekedése megnövekedett ATP-termeléssel jár.

Összehasonlító kísérleteket végeztünk a HD-t neurotoxinnal (3-nitropropionsav) való kezeléssel szimuláló egerekkel is. A 3-nitropropionsavas kezelés, bár a HD-hoz hasonló morfológiai és viselkedésbeli tüneteket okozott, molekuláris szinten csak részben reprodukálta a HD következményeit. Itt is a hexokináz aktivitásának növekedését tapasztaltuk, azonban míg az ATP-szint a transzgenikus állatok agyában nőtt, a 3-nitropropionsavas kezelés esetében csökkent, vélhetően a toxinnak a mitochondriumokra gyakorolt hatása folytán, mivel gátolja a complex II-t.

Vizsgáltuk normál és mutáns huntingtin fehérjék, valamint a glikolitikus enzimek kölcsönhatását a citoszeletális elemekkel a transzgenikus egerek agyából készült extraktumban. Pelletálási kísérletekben, specifikus antitesteket használva megállapítottuk, hogy a normál huntingtin igen, a mutáns fragmens nem kötődött a mikrotubulusokhoz. Ez azonban nem feltétlenül jelenti azt, hogy ez a teljes hosszúságú mutáns huntingtin esetén is így van. Érdekes módon, a transzgenikus egereknek a betegség által érintett agyterületéből készített extraktumából jelentősen megnövekedett a kikötődött GAPDH mennyisége.

Az általunk kifejlesztett matematikai modellel le tudtuk írni a HD-s egéragy mintákban mért, a kontrolhoz képest megnövekedett glikolitikus fluxust (piruvát- illetve NADH-képződés kinetikáját). A sebességi egyenleteket és a kinetikai paramétereket a kísérletesen meghatározott mechanizmusok illetve kinetikai állandók alapján írtuk fel. A kinetikai modell alapján azt javasoltuk, hogy a transzgenikus egerek mintái esetében a kísérletesen tapasztalt, megnövekedett glikolitikus fluxushoz valószínűleg hozzájárul az intermedier GAP mikrokompartmentalizációja. E tekintetben érdekes lehet az, hogy a mutáns huntingtin fehérjéhez kötődik a GAP átalakulását katalizáló GAPDH, míg a normál huntingtinhez nem.

## **A TPPP/p25 és homológjai**

Az általunk „újra felfedezett” TPPP/p25-ről - *Tubulin Polymerization Promoting Protein* – a pályázat kezdetekor azt tudtuk, hogy elősegíti a tubulnopolimerizációt (Hlavanda és mtsai, 2002), stabilizálja a mikrotubulusokat (Tirián és mtsai, 2003), és felszaporodik a szinukleinopáthiákra (pl. PD) jellemző zárványtestekben (Orosz és mtsai, 2004). A HGNC (Human Gene Nomenclature Committee) elfogadta, hogy a korábban egyszerűen p25-nek nevezett fehérje illetve gén elnevezése az általunk bevezetett módon TPPP/p25 (*TPPP*) legyen ([http://www.genenames.org/data/hgnc\\_data.php?hgnc\\_id=24164](http://www.genenames.org/data/hgnc_data.php?hgnc_id=24164)).

### *A TPPP fehérjecsalád [10]*

A humán genomban található két, a TPPP/p25-höz képest rövidebb gén, a *CGI-38* és a *p25beta*, amelyek különböző kromoszómákon találhatók. A gének által kódolt fehérjék, amelyeket TPPP3/p20-nak és TPPP2/p18-nak neveztünk el, kb. 60%-os azonosságot mutatnak egymással és a TPPP/p25-tel, azonban hiányzik annak N-terminális szakasza. A TPPP3/p20-at elsőként izoláltuk fehérjeként, marhaagyból [10]. Mindhárom fehérjét klónoztuk és izoláltuk. Különböző predikciós és szerkezetvizsgálati módszerekkel megmutattuk, hogy míg a TPPP/p25 nagymértékben rendezetlen fehérje, addig a TPPP3/p20 kisebb mértékben, a TPPP2/p18 jelentősen rendezettebb [6, 10]. A legegyszerűbben rendezetlen régió a csak a TPPP/p25-ben meglévő N-terminális farok. Funkcionális tulajdonságaik is nagymértékben különböznek. A két hosszabb paralóg *in vitro* és *in vivo* egyaránt köteget a mikrotubulusokat, a TPPP2/p18 viszont *in vitro* csak igen gyengén kötődik a tubulusokhoz, és homogénen oszlik el a tranziensen transzfektált HeLa sejtek citoszoljában. A két hosszabb fehérje stabilizálja a mikrotubuláris hálózatot, kivédik az antimitotikus szerek hatását, azaz "MAP"-ként viselkednek. Jelentős különbség azonban közöttük, hogy csak a TPPP/p25 overexpressziója eredményezi "aggreszóma"-szerű képződmények (aggregátumok) létrejöttét [10]. (A mikrotubuláris hálózat jelentős átrendeződése során képződő "aggreszóma" a centroszóma körül figyelhető meg.) Mivel csak a TPPP/p25-öt találtuk/találták meg eddig a szinukleinpáthiákra jellemző zárványtestekben (pl. [3,7]), így az aggreszóma-képződést tekinthetjük a patológias eset modelljének is.

### *„Patológias” sejtmodellek [3, 7]*

E zárványtestekben (ún. Lewy-testek) a TPPP/p25 és az  $\alpha$ -szinuklein teljes kolokalizációt mutat. Emellett kimutattuk bennük a GAPDH jelenlétét [7] és részleges kolokalizációját a fenti fehérjékkel. E jelenséget ebben az esetben is modellezni tudtuk az EGFP-TPPP/p25 HeLa sejtekbeli overexpressziójával. Az ekkor képződött "aggreszómában" a GAPDH részben kolokalizál a TPPP/p25-tel. (Alacsony expressziónál sem aggregátumképződés, sem kolokalizáció nem tapasztalható.)

A TPPP/p25 tranziens expressziójának a HeLa sejtek energiaállapotára való hatását a mitochondriális membrán polarizációs állapotának változása alapján tanulmányoztuk. TMRE-t, egy fluoreszcens festéket használtunk, amely csak a hiperpolarizált, működő membránt festi meg [7]. A membrán polarizációs állapota kizárólag overexpressziókor változott. A kontrol vagy az alacsony expressziójú sejtek hiperpolarizált membránjától eltérően ekkor a membránpotenciál összeomlott, ami a citoszolikus és a mitochondriális  $\text{NAD}^{+}$ - "pool"-ok kiürülését eredményezte.

SK-N-MC neuroblasztóma sejtekben csak alacsony szinten lehetett kifejezni a TPPP/p25-öt, de ekkor sikerült stabil sejtvonalat előállítanunk [3] és (Orosz és mtsai, 2004). E sejtekben a membránpolarizáció nem változott, ugyanakkor az ATP-szint mintegy másfélszeresére nőtt, jelezve a fokozott energiatermelést. Érdekes ezt összevetni avval, hogy HD-transzgenikus egerek patológiásan érintett agyterületén hasonlóképpen megnövekedett az ATP-szint. Feltételezésünk szerint ez egyike lehet a neurodegeneratív betegségek közös jellemzőinek. (Lásd ezt alább [13].)

#### *A TPPP/p25 kölcsönhatásai. Foszforilációja és ennek funkcionális szerepe [11]*

A GAPDH mellett még további kölcsönható partnereket azonosítottunk marhaagyból affinitáskromatográfiát (immobilizált TPPP/p25-öt használva) vagy immunprecipitációt követő tömegspektrometriával [7]. E kölcsönhatások közül többnek *in vivo* is funkcionális szerepe lehet: mitogen-aktivált protein kináz 1 (ERK2), foszfatáz 2A inhibitor I2PP2A, elongációs faktor 1 $\alpha$  stb. A TPPP/p25-tel kölcsönható fehérjék között azonosítottunk egy MAP-kinázt (ERK2). *In silico* elemzéssel megmutattuk, hogy a fehérje valóban tartalmaz egy ún. ERK-dokkoló szekvenciaszakaszt [11]. E fehérje azonosítása különös jelentőséggel bírt foszforilációs munkáinkkal kapcsolatban. Megállapítottuk, hogy ez a kináz foszforilálja a TPPP/p25 különösen rendezetlen N-terminális részén lévő Ser/Thr oldalláncokat (Thr14, Ser18). Ugyanezen helyek Cdk5-tel (ciklin dependens kináz 5) is foszforilálhatók, míg a PKA (cAMP-függő protein kináz) a Ser32-helyen foszforilál [11]. A TPPP/p25 fiziológiás szerepének megismeréséhez fontos a poszttranszlációs módosítások, így a foszforiláltság ismerete. A fenti három hely *in vivo* is foszforilálva van, mint azt az általunk marhaagyból tisztított fehérje MS vizsgálata mutatta [11]. (Ezt több, mások által végzett proteomikai vizsgálat humán és rágcsáló agy esetén is megerősítette (Collins és mtsai, 2008; Trinidad és mtsai, 2008).) E foszforilációs helyek fontosságát mutatja, hogy filogenetikai elemzésünk szerint a fehérje rendezetlen N-terminális "farkának" aminosav-szekvenciája igen kevésbé konzervatív, az említett foszforilációs helyek illetve konszenzus szekvenciák kivételével. Azt tapasztaltuk, hogy a TPPP/p25 foszforilációjának szerepe van a mikrotubulus szerveződésének szabályozásában. A Cdk5-tel és ERK2-vel történő foszforiláció hatására módosulnak a TPPP/p25 – tubulin kölcsönhatáskor bekövetkező szerkezeti változások, ill. megszűnik a TPPP/p25 tubulinpolimerizáló képessége. A PKA-val történő foszforilációnak e folyamatokra nincs hatása [11]. Mivel az ERK2 és a Cdk5 nem csak egy helyen foszforilálja a fehérjét, így olyan mutánsokat állítottunk elő, amelyek szimulálják a különböző helyeken foszforilált/defoszforilált TPPP/p25-öt. Ezek vizsgálata folyamatban van.

A TPPP/p25 és más mikrotubulushoz kötődő fehérjék (MAP-ek) szekvencia-összehasonlításával valószínűsítettük a TPPP/p25 mikrotubulus-kötő szakaszát [11]. Ezt

kísérletes, még nem publikált eredményeink is alátámasztják.

#### *A TPPP/p25 szerepe az oligodendrocita differenciációban [14]*

A TPPP/p25 az agyban elsősorban az oligodendroglia sejtekben fordul elő (Takahashi és mtsai, 1993; Kovács és mtsai, 2007). Újabb eredményeink azt mutatják, hogy a TPPP/p25 alapvető szerepet játszik az oligodendrocita sejtek differenciációjában. Ennek során a progenitor sejtekből érett, mielinizáló oligodendrociták képződnek, ami elágazó, mikrotubulus-alapú nyúlványok kialakulásával jár együtt. CG-4 sejteket használva (amelyek patkány agyi primer sejt kultúrából származó bipotenciális - oligodendrocita/asztrocita - progenitor sejtek) egyértelműen bizonyítottuk a TPPP/p25 szerepét az oligodendrocita differenciációban. Az érési folyamat során egyre nő a TPPP/p25 mennyisége. A fehérje együtt lokalizálódik a mielin bázikus fehérjével (ami a differenciálódott oligodendrociták szokásos markere), elsősorban a nyúlványokban. Ezen adataink összhangban vannak Goldbaum és mtsai (2008) velünk párhuzamosan kapott azonos eredményeivel.

Itt említtem meg, hogy különböző neurodegenerációs betegségek esetében (többek között ADm HD, PD, MSA, DLBD), az általunk előállított antitesteket használva vizsgálták kollaborátoraink a TPPP/p25 előfordulását zárványtestekben. Megerősítették, hogy a TPPP/p25 elsősorban a szinukleinopáthiákra (PD, MSA, DLBD) jellemző aggregátumokban, az  $\alpha$ -szinukleinnel együtt jelenik meg, ezen kívül HD-ban néhány extracelluláris struktúrában, a huntingtinnel együtt (Kovács és mtsai, 2007).

#### *A TPPP fehérjék ciliáris szerepe [5, 16]*

A már ismert genomok vizsgálata a BLAST program segítségével felfedte, hogy a TPPP család tagjai csak olyan élőlényekben fordulnak elő, amelyekben van csilló/ostor illetve alapi test/centriola. (Ezek valamennyien mikrotubulusban gazdag szerveződések.) Ez alapján javasoltuk, hogy a TPPP/p25-nek vagy valamelyik homológjának szerepe lehet a szuperstruktúrák működésében és az ezekhez kapcsolódó folyamatokban, mint pl. a sejt ciklusban. A TPPP/p25 ciliáris előfordulását publikálatlan immunhisztokémiai eredményeink igazolják.

#### **Összefoglaló munkák [5, 9, 13, 17-19]**

Felkérésre összefoglalókat írtunk a TPI-hiányról [9] valamint a TPPP fehérjéről; ez utóbbi témában többet is [5, 17, 18].

A neurodegenerációs folyamatok energiametabolizmusáról részben saját munkánkon is

alapuló összefoglalót írtunk. (Energy Metabolism in Conformational Diseases) [13]. Ebben elsősorban az AD, HD, PD és a TPI-deficiencia energetikai vonatkozásait, a glükóz- és laktátfogyasztás, az ATP-termelés és -felhasználás, a neuronális aktiválás és az aberráns fehérje-fehérje kölcsönhatások kapcsolatát tárgyaltuk. Felhasználtuk a TPI-hiány, a HD egérmodellek és a TPPP/p25-öt overexpresszáló sejtmodellek vizsgálatával kapott egybevágó eredményeinket, amelyek alátámasztják, hogy a neurodegeneratív betegségek egyik közös jellemzője lehet az, hogy a kór kezdeti stádiumában - illetve az ezt modellező sejtekben - fokozott energiatermelés szükséges az aberráns fehérjestruktúrák eliminálásához.

Eredményeink elismeréseképpen a Springer kiadó felkérésére szerkesztettünk egy kötetet, amely a neurodegenerációs kórképeket mint konformációs betegségeket tárgyalja, elsősorban e betegségek fehérjeszerkezeti alapjaira fókuszálva. A könyv a kiadó "Focus on Structural Biology" sorozatában jelent meg [19].

## Hivatkozások

Az OTKA publikációs jegyzékben szereplő hivatkozásokat szögletes zárójelben lévő számok jelzik. További hivatkozott irodalom:

- Collins MO, Yu L, Campuzano I, Grant SG, Choudhary JS. 2008. Phosphoproteomic analysis of the mouse brain cytosol reveals a predominance of protein phosphorylation in regions of intrinsic sequence disorder. *Mol Cell Proteomics*. 7:1331-1348.
- Hlavanda E, Kovács J, Oláh J, Orosz F, Medzihradszky KF. et al. 2002. Brain-specific p25 protein binds to tubulin and microtubule and induces aberrant microtubule assemblies at substoichiometric concentration. *Biochemistry* 41:8657-8664.
- Goldbaum O, Jensen PH, Richter-Landsberg C. 2008. The expression of tubulin polymerization promoting protein TPPP/p25 $\alpha$  is developmentally regulated in cultured rat brain oligodendrocytes and affected by proteolytic stress. *Glia*. 56:1736-1746.
- Kovács GG., Gelpi E, Lehotzky A, Hofberger R, Erdei A et al. 2007. The brain-specific protein TPPP/p25 in pathological protein deposits of neurodegenerative diseases. *Acta Neuropathol (Berl)* 113:213-215.
- Mantle D, Falkous G, Ishiura S, Blanchard PJ, Perry EK. 1996. Comparison of proline endopeptidase activity in brain tissue from normal cases and cases with Alzheimer's disease, Lewy body dementia, Parkinson's disease and Huntington's disease. *Clin. Chim. Acta* 249:129-139.
- Orosz F, Kovács GG, Lehotzky A, Oláh J, Vincze O. et al. 2004. TPPP/p25: from unfolded protein to misfolding disease. Prediction and experiments. *Biol. Cell*. 96:701-711.
- Takahashi M, Tomizawa K, Fujita SC, Sato K, Uchida T. et al. 1993. A brain-specific protein p25 is localized and associated with oligodendrocytes, neuropil, and fiber-like structures of the CA3 hippocampal region in the rat brain. *J Neurochem*. 60:228-235.
- Tirán L, Hlavanda E, Oláh J, Horváth I, Orosz F. et al. 2003. TPPP/p25 promotes tubulin assemblies and blocks mitotic spindle formation. *Proc. Natl. Acad. Sci USA* 100:13976-13981.
- Trinidad JC, Thalhammer A, Specht CG, Lynn AJ, Baker PR et al. 2008. Quantitative analysis of synaptic phosphorylation and protein expression. *Mol Cell Proteomics*. 7:684-696.